

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2015-522822

(P2015-522822A)

(43) 公表日 平成27年8月6日(2015.8.6)

(51) Int.Cl.		F I		テーマコード (参考)
GO 1 N 33/563	(2006.01)	GO 1 N	33/563	
GO 1 N 33/53	(2006.01)	GO 1 N	33/53	D

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 25 頁)

(21) 出願番号	特願2015-522160 (P2015-522160)	(71) 出願人	510184449
(86) (22) 出願日	平成25年7月10日 (2013.7.10)		ザ バインディング サイト グループ
(85) 翻訳文提出日	平成27年3月19日 (2015.3.19)		リミテッド
(86) 国際出願番号	PCT/GB2013/051828		イギリス ウェスト ミッドランズ B 1
(87) 国際公開番号	W02014/013225		5 1 Q T バーミンガム エッジバスト
(87) 国際公開日	平成26年1月23日 (2014.1.23)		ン キャルソープ ロード 8
(31) 優先権主張番号	1212900.3	(74) 代理人	100100549
(32) 優先日	平成24年7月20日 (2012.7.20)		弁理士 川口 嘉之
(33) 優先権主張国	英国 (GB)	(74) 代理人	100126505
			弁理士 佐貫 伸一
		(74) 代理人	100131392
			弁理士 丹羽 武司
		(74) 代理人	100151596
			弁理士 下田 俊明

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 トリアージスコアリングシステム

(57) 【要約】

本願は、患者における症状の重症度を判定する方法であって、(i) 前記患者に対して早期警告スコア (EWS)、改変型早期警告スコア (MEWS)、小児早期警告スコア (PEWS)、NHS 早期警告スコア (NEWS)、簡易臨床スコア (SCS)、迅速救急スコア (REMS)、または救急診療部敗血症スコアにおける死亡率などのトリアージスコアをつけること、(ii) 前記患者由来の試料中の遊離軽鎖 (FLC)、好ましくは遊離軽鎖混合物 (cFLC) の量を測定すること、および (iii) 前記患者における症状の重症度を評価するために前記トリアージスコアおよび前記の測定された FLC の量を使用することを含む前記方法を開示する。本法によってトリアージを受ける患者により好適な治療を提供することも可能になる。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

患者における症状の重症度を判定する方法であって、(i)前記患者に対して早期警告スコア(EWS)、改変型早期警告スコア(MEWS)、小児早期警告スコア(PEWS)、NHS早期警告スコア(NEWS)、簡易臨床スコア(SCS)、迅速救急スコア(REMS)、または救急診療部敗血症スコアにおける死亡率などのトリアージスコアをつけること、(ii)前記患者由来の試料中の遊離軽鎖(FLC)の量を測定すること、および(iii)前記患者における症状の重症度を評価するために前記トリアージスコアと前記の測定されたFLCの量を使用することを含む、前記方法。

【請求項 2】

前記のFLCの量が遊離軽鎖混合物(cFLC)である、請求項1に記載の方法。

【請求項 3】

前記トリアージスコアが前記患者の収縮期血圧、心拍数、呼吸速度および体温のうちの1つ以上を測定すること、および前記測定値または各測定値を所定の値と比較して前記測定値のスコアをつけることを含む、請求項1に記載の方法。

【請求項 4】

前記トリアージスコアが前記患者における意識、血中酸素レベル、尿量および/または疼痛のうちの1つ以上のレベルのスコアをつけることを含む、請求項1から3の何れか一項に記載の方法。

【請求項 5】

前記患者が紹介診療室(medical admissions unit)に入室している、請求項1から4の何れか一項に記載の方法。

【請求項 6】

45mg/Lまたは50mg/Lを超える、典型的には65mg/Lまたは70mg/Lを超えるcFLCのレベルが、追加の治療が無いときに前記患者が100日以内に死亡する可能性の増加を表す、請求項1から5の何れか一項に記載の方法。

【請求項 7】

前記患者における血清アルブミンレベルを測定することを追加として含む、請求項1から6の何れか一項に記載の方法。

【請求項 8】

33g/L未満の血清アルブミンレベルが、追加の治療が無いときの100日以内の死亡リスクの上昇を表す、請求項7に記載の方法。

【請求項 9】

前記のFLCの量と所望により前記のアルブミンの量が抗遊離軽鎖抗体を使用する免疫アッセイにより決定される、請求項1から8の何れか一項に記載の方法。

【請求項 10】

請求項1から9の何れか一項に記載の方法における抗FLC抗体またはそれらの断片を含むアッセイキットの使用。

【請求項 11】

請求項1から9の何れか一項に記載の方法において使用される、抗アルブミン抗体またはそれらの断片と組み合わせて抗FLC抗体またはそれらの断片を含むアッセイキット。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、患者に対して早期警告スコア(EWS)または改変型早期警告スコア(MEWS)などのトリアージスコアをつけ、且つ、患者由来の試料における遊離軽鎖(FLC)、例えば、遊離軽鎖混合物(cFLC)の量を測定することによりその患者における症状の重症度を判定する方法に関する。

【背景技術】

【0002】

10

20

30

40

50

抗体は重鎖と軽鎖を含む。抗体は通常は二重対称性を有し、それぞれ可変領域ドメインと定常領域ドメインを含有する2つの同一の重鎖と2つの同一の軽鎖から構成される。各軽鎖/重鎖対の可変ドメインが組み合わさって抗原結合部位を形成し、そして両鎖が抗体分子の抗原結合特異性に寄与する。軽鎖にはとの2種類があり、あらゆる所与の抗体分子はどちらかの軽鎖から作られるが、両方から作られることは決してない。ヒトにおいて作られる分子の約2倍の数の分子が存在するが、これは幾つかの哺乳類動物において異なる。通常、軽鎖は重鎖に結合している。しかしながら、結合していない「遊離軽鎖」が幾らか個体の血清または尿の中に検出されることがある。FLCは、軽鎖の重鎖への結合によって通常は隠れされている遊離軽鎖の表面に対する抗体を産生させることによって特異的に同定され得る。FLCではこの表面が露出されており、免疫学的にFLCが検出されることを可能にしている。FLCまたはFLC検出用の市販のキットには、例えば、英国パーミンガムのBinding Site Group Limited社製の「Freelite (商標)」が含まれる。出願人らは遊離の量、遊離の量、および/または遊離/遊離率の測定によって患者におけるモノクローン性ガンマグロブリン血症の検出が可能になることを以前に明らかにした。その測定は、例えば、完全型免疫グロブリン多発性骨髄腫(MM)、軽鎖MM、非分泌性MM、ALアミロイド症、軽鎖沈着症、くすぶり型MM、形質細胞腫、およびMGUS(意義不明モノクローン性ガンマグロブリン血症)の診断において役立つものとして用いられている。FLCの検出は、例えば、他のB細胞悪液質の診断において役立つものとしても用いられており、実際にはモノクローン性ガンマグロブリン血症の診断のための尿由来ベンス・ジョーンズタンパク質分析の代替法として一般的に用いられている。

【0003】

従来的には軽鎖または軽鎖のうちの1つの増加が調査される。例えば、多発性骨髄腫は悪性形質細胞のモノクローン性増幅から生じ、一種類の免疫グロブリンを産生する一種類の細胞の増加を引き起こす。これにより、かのどちらかのFLCの量の増加が個体内で観察されることになる。この濃度の上昇を測定することができ、通常は遊離に対する遊離の比率を決定し、正常範囲と比較する。これはモノクローン性疾患の診断に役立つ。また、患者における疾患の治療後にFLCアッセイを用いることもできる。例えば、ALアミロイド症の治療後の患者の予後診断を実施することができる。

【0004】

Katzmannら(非特許文献1)はモノクローン性ガンマグロブリン血症の診断における遊離免疫グロブリンと遊離免疫グロブリンの血清基準範囲と診断範囲について考察している。21~90歳の年齢の個体を免疫アッセイにより調査し、免疫固定により得られた結果と比較してB細胞悪液質を有する個体におけるモノクローン性FLCの検出のための免疫アッセイを最適化した。

【0005】

FLCとFLCの量および/率が記録されてB細胞悪液質の検出用に基準範囲が決定されることが可能になった。

【0006】

出願人らはFLCのアッセイ、特に全FLCのアッセイを用いて、個体が一見したところ健常対象であるときでもその個体の多年にわたる長期生存を予測することができることを明らかにした。出願人らはFLC濃度が長期生存と統計的に有意に関連することを見出した。また、この関連は、コレステロール、クレアチニン、シスタチンCおよびC反応性タンパク質などの既存の長期生存予後診断マーカーの関連と同様、またはより好適であるように見える。

【0007】

近年、cFLCが慢性腎臓病をはじめとする多くの臨床シナリオの予後兆候となることが示されている(非特許文献2)。血液学検査室(hematology unit)に差し向けられた患者の血清試料中のcFLCの増加が100日後の患者の死亡頻度の上昇と相関することが示されている(非特許文献3)。

10

20

30

40

50

【 0 0 0 8 】

EWSおよびMEWSなどのトリアージスコアリングシステムは病院の看護従事者および医療従事者ならびに救急隊員によって使用される、患者の病気の程度を判定するための簡便な指針である。通常、所望により観察された意識レベルと共に収縮期血圧（BP）、心拍数（分当たり心拍数 - BPM）、呼吸速度（分当たり呼吸数）および体温（ ）についてスコアがつけられる。数値スコアをつけるためにこれらを所定の正常レベルと比較する。

【 0 0 0 9 】

下の表は典型的なMEWSスコアリングシステムを示す。

【 0 0 1 0 】

【表 1】

表 1

スコア	3	2	1	0	1	2	3
心収縮期 BP	45% 未満	30%	15% 低下	患者の 正常値	15% 上昇	30%	45%超
心拍数	—	40未満	41~50	51~100	101~110	111~129	130超
呼吸速度 (RPM)	—	9未満	—	9~14	15~20	21~29	30超
体温 (°C)	—	35未満	—	35.0~38.4	—	38.5超	—
AVPU*	—	—	—	A	V	P	U

10

20

*意識レベル

A = 覚醒、V = 呼びかけに反応あり、P = 痛みに反応あり、U = 意識不明

【 0 0 1 1 】

上記のシステムにおける4以上のスコアは死亡リスクの上昇または手厚い医療介入のための集中治療室への入院リスクの上昇を表す。例えば、非特許文献4を参照のこと。

【 0 0 1 2 】

出願人はこれらのスコアリングシステムに問題があることに気付いた。低いMEWSスコアを有する患者が入院を必要とすること、または追加の治療のために病院に留め置かれることが時折示されてきた（非特許文献5）。

30

【 0 0 1 3 】

患者が適切に採点されていない場合、それらの患者は正確に治療されない可能性がある。

【 0 0 1 4 】

また、イングランドなどの幾つかの国では患者が退院し、そして再入院しなくてはならない場合に病院は罰金を科される。したがって、追加の治療を必要とする患者を特定するため、および再入院率を低下させるために正確なEWSシステムまたはMEWSシステムを使用することが必要である。

40

【先行技術文献】

【非特許文献】

【 0 0 1 5 】

【非特許文献1】Katzmann, Clin. Chem. (2002); 48(9): 1437-1944

【非特許文献2】Stringer S. Haematology Reports (2010) 2(S2) page 6

【非特許文献3】Basu S et al Haematologica (2011) 96 (S2):0805a

【非特許文献4】Subbe C P et al (QJM (2001) 94, 521-526

【非特許文献5】Birch V C et al Emerg. Med. J. (2008) 25 (10) 674-8

【発明の概要】

【 0 0 1 6 】

出願人は、FLCレベルと共にEWSシステムまたはMEWSシステムを使用すること

50

が患者における病気の重症度を評価する能力の改善のために使用され得ることに気付いた。

【0017】

本発明は、患者における症状の重症度を判定する方法であって、(i) トリアージスコアをつけること、(ii) 前記患者由来の試料中のFLC、好ましくは遊離軽鎖混合物(cFLC)の量を測定すること、および(III) 前記患者における症状の重症度を評価するために前記のEWSスコアまたはMEWSスコアおよび前記の測定されたFLCの量を使用することを含む前記方法を提供する。

【図面の簡単な説明】

【0018】

次に、本発明は単に例示を目的として後続の図面を参照して説明される。

【図1】 試験集団について記録された悪性腫瘍を詳述する図である。

【図2】 全フォローアップ期間における全ての患者のカプラン・マイヤー生存曲線を示す図である。最初の100日間以内の多数の死亡例が明らかである。縦線は100日の時点を表す。

【図3】 死亡リスク(全フォローアップ期間以内)がcFLC濃度(直線)によってどれ位変化するかを示す図である。破線は95%信頼区間を表す。

【図4】 A) cFLCとCRPとの間の相関分析($r = 0.44$, $p < 0.001$)。

B) cFLCとアルブミンとの間の相関分析($r = -0.48$, $p < 0.001$)。 C

) cFLCとeGFRとの間の相関分析($r = -0.38$, $p < 0.001$)。 D) cFLCと年齢との間の相関分析($r = 0.32$, $p < 0.001$)。

【図5】 低アルブミン濃度(33g/L未満)と高cFLC濃度(65mg/L超)をリスク因子として用いる簡易リスク階層化モデル(コンプライト(Combylite)リスクスコア)を示す図である。フォローアップ期間を通した生存の可能性が0リスク因子(点線)、1リスク因子(灰色の線)または2リスク因子(黒色の線)を有する患者について比較されている。

【図6】 死亡例の比較的大きな割合が比較的に高いcFLC濃度(50mg/L超または65mg/L超)を有する患者の中で記録されたことを示すヒストグラムである。このことは感染症/呼吸器系、循環器系および消化器系のICD10死亡証書分類について有意になった。

【図7】 血液におけるcFLCの濃度を制御する主要過程、すなわち、形質細胞および早期B細胞による産生と腎臓および細網内皮系を介したクリアランスを例示する模式図である。これらの過程のうちの一つ以上に影響する病理がcFLC濃度を変化させることができた。

【発明を実施するための形態】

【0019】

トリアージスコアは例えば早期警告スコア(EWS)、改変型早期警告スコア(MEWS)、小児早期警告スコア(PEWS)、NHS早期警告スコア(NEWS)、簡易臨床スコア(SCS)、迅速救急スコア(REMS)、または救急診療部敗血症スコアにおける死亡率であり得、それらの全てが当技術分野において一般的に知られている。

【0020】

PEWSでは例えば呼吸器系、心血管系および行動(遊んでいる、寝ている、または怒りっぽい)がスコア用のマーカーとして用いられる。SCSシステムは年齢、酸素飽和、血圧、発熱、ECG異常を含む因子、ならびに精神状態、卒中(stroke)、および自立能力(ability to stand)などの他の因子を検査する。

【0021】

収縮期血圧、心拍数、呼吸速度、および/または体温のうちの一つ、二つ、三つ、または四つ全てを測定してスコアをつけることができる。観察結果、例えば、患者の意識レベルを評価して採点することができる。

【0022】

10

20

30

40

50

血中酸素飽和スコア、ECGスコア、尿量スコアおよび/または疼痛スコアのうちの1つ以上を使用してトリアージスコアをつけることもできる。

【0023】

典型的なスコアリングシステムが上記の表に示されている。血圧、心拍数、呼吸速度および体温および検査される他の特徴は当技術分野においてよく知られている方法を用いて測定され得る。通常、それらの方法は非侵襲的である。

【0024】

患者は病院等の紹介診療室 (medical admissions unit) に入室、例えば、緊急入室することがあり得る。

【0025】

患者は病院において治療後に退院を待っている患者でもあり得る。この事例では、例えば患者を退院させるよりもむしろ診断未確定の体調について追加の治療が行われるべきかどうかの評価として本発明が用いられる。

【0026】

症状の重症度の判定は好ましくは、患者の症状が短期の間に、例えば、評価日から150日、100日、75日、50日、25日、またはそれより少ない日数の内に病気、特に重症の病気、または死を引き起こす可能性の指標を得ることを意味する。

【0027】

よって、本方法は、患者をさらにしばらく医学的観察下に留めることが求められる場合、または患者を医師による管理から解放することが求められる場合に患者に治療を実施する、または患者に追加の診断法を実施する追加のステップを提供する。

【0028】

FLCの量をFLCの所定の正常範囲と比較してそのFLCの量が正常範囲よりも多いのか少ないのか示すことができる。これをEWSまたはMEWSなどのトリアージスコアと同様の方法で採点してその濃度についての数値スコアをつけることができる。

【0029】

そのFLCはFLCまたはFLCであり得る。しかしながら、FLCまたはFLCのみの検出は、例えば、患者において例えばモノクロー的に産生された異常に高レベルの一方のFLCまたは他方のFLCを見落とす可能性があるので、好ましくは全FLC濃度が測定される。

【0030】

FLC混合物は試料中の遊離軽鎖と遊離軽鎖の全量を意味する。

【0031】

「全遊離軽鎖」という用語は対象由来の試料中の遊離軽鎖と遊離軽鎖の量を意味する。

【0032】

その試料は通常は対象に由来する血清試料である。しかしながら、全血、血漿、尿または他の組織試料または体液試料も潜在的に利用され得る。

【0033】

通常、FLC、例えば、全FLCはELISAアッセイなどの免疫アッセイによって、またはLuminex (商標) ビーズなどの蛍光標識ビーズを利用して測定される。あるいは、それは当技術分野において一般的に知られているラテラルフロー・ポイント・オブ・ケア検査キットの形状で用いられ得る。

【0034】

ELISAは例えば特異的抗原を検出する抗体を使用する。そのアッセイに用いられる抗体のうちの一つ以上が、基質を検出可能分析物に変換することができる酵素で標識され得る。そのような酵素にはホースラディッシュペルオキシダーゼ、アルカリホスファターゼ、および当技術分野において知られている他の酵素が含まれる。あるいは、他の検出可能タグまたはラベルをそれらの酵素の代わりに、またはそれらの酵素と共に使用することができる。これらには放射性同位体；フルオレセイン、アレクサフルオロ、オレゴングリ

10

20

30

40

50

ーン、BODIPY、ローダミンレッド、カスケードブルー、マリーナブルー、パシフィックブルー、カスケードイエロー、金を含む、当技術分野において知られている広範囲の着色標識および蛍光標識；およびビオチンなどのコンジュゲート（例えば、英国のインビトロジェン社より入手可能）が含まれる。染料ゾル、金属ゾル、化学発光標識または着色ラテックスを使用することもできる。これらの標識のうちの1つ以上を本明細書に記載される様々な発明に従ってELISAアッセイにおいて使用することができ、または代わりに本明細書に記載される標識抗体またはキットを他のアッセイにおいて使用することができる。

【0035】

ELISA型アッセイの構築自体は当技術分野においてよく知られている。例えば、FLCに特異的な「結合抗体」を基材上に固定化する。その「結合抗体」を当技術分野においてよく知られている方法によってその基材に固定化することができる。試料中のFLCはFLCに結合する「結合抗体」によってその「結合抗体」を介して基材に結合される。

10

【0036】

未結合の免疫グロブリンを洗い流すことができる。

【0037】

ELISAアッセイでは結合した免疫グロブリンの存在は、結合抗体の結合部位とは異なる目的のFLCの部位に特異的な標識「検出抗体」を使用して判定され得る。

【0038】

フローサイトメトリーを用いて目的のFLCの結合を検出することができる。この技法は例えば細胞選別の技術分野においてよく知られている。しかしながら、標識したビーズなどの粒子を検出するため、およびそれらのサイズを測定するためにフローサイトメトリーを用いることもできる。Practical Flow Cytometry、第3版、(1994年)H. Shapiro著、Alan R. Liss社、ニューヨーク、およびFlow Cytometry, First Principles (第2版) 2001年、A. L. Given著、Wiley Liss社、などの多数の教科書がフローサイトメトリーについて説明している。

20

【0039】

結合抗体のうちの1つ、例えば、FLC特異的抗体がポリスチレンビーズまたはラテックスビーズのようなビーズに結合している。それらのビーズを試料および2つ目の検出抗体と混合する。その検出抗体は好ましくは検出可能標識で標識されており、試料中の検出されるFLCにその検出抗体が結合する。これによって、アッセイされるFLCが存在すると標識ビーズが生じる。

30

【0040】

本明細書に記載される他の分析物に特異的な他の抗体を使用してそれらの分析物の検出を可能にすることもできる。

【0041】

標識ビーズは次にフローサイトメトリーにより検出され得る。異なる標識、例えば、異なる蛍光標識を例えば抗遊離抗体と抗遊離抗体に使用することができる。本明細書に記載される他の分析物に特異的な他の抗体を、それらの分析物の検出を可能になるようにこのアッセイまたは本明細書に記載される他のアッセイに使用することができる。これによって、結合した各種のFLCの量が同時に決定されること、または他の分析物の存在が決定されることが可能になる。

40

【0042】

あるいは、または加えて、異なるサイズのビーズを異なる抗体、例えば、異なるマーカ-特異的抗体に使用することができる。フローサイトメトリーは異なるサイズのビーズを識別することができ、したがって、試料中の各FLCまたは他の分析物の量を迅速に決定することができる。

【0043】

代替的方法は例えば市販のLuminesx (商標) ビーズなどの蛍光標識ビーズに結合

50

した抗体を使用する。異なるビーズが異なる抗体と共に使用される。異なるビーズが異なるフルオロホア混合物で標識され、そして異なる分析物が蛍光波長によって測定されることを可能にする。Luminesxビーズは米国テキサス州オースティンのLuminesx社から入手可能である。

【0044】

使用されるアッセイは好ましくは比ろう法 (nephelometric method) または比濁法 (turbidimetric method) である。FLCまたはFLCの検出のための比ろうアッセイ (nephelometric assay) および比濁アッセイ (turbidimetric assay) は当技術分野において一般的に知られている。それらのアッセイは最良レベルのアッセイ感度を有する。FLCとFLCの濃度が別々に決定されても、全FLC用の一度のアッセイでそれらの濃度に到達してもよい。そのようなアッセイは抗FLC抗体と抗FLC抗体を典型的には50:50の比率で含む。

10

【0045】

遊離 軽鎖と遊離 軽鎖の混合物に対して抗体を産生させることもできる。

【0046】

全FLCの量を標準値である所定の値と比較してその全量が正常値よりも高いか低いかが決定することができる。

【0047】

本方法は好ましくは、免疫アッセイを活用して、例えば、抗遊離 軽鎖抗体と抗遊離 軽鎖抗体またはそれらの断片の混合物を利用して試料中の全FLCの量を検出することを含む。そのような抗体は抗 : 抗 抗体が50:50の比率のものであり得る。FLCに結合した抗体または断片は標識抗体または標識抗体断片を使用して直接的に、または抗遊離 抗体もしくは抗遊離 抗体に対する標識抗体を使用して間接的に検出され得る。

20

【0048】

それらの抗体はポリクローン性またはモノクローン性であり得る。ポリクローン性抗体は同じ鎖の異なる部分に対して産生されるので、同じ種類の軽鎖の間の幾らかの変化が検出されることを可能にするため、それらのポリクローン性抗体を使用することができる。ポリクローン性抗体の産生は例えば国際公開第97/17372号パンフレットに記載されている。

【0049】

50 mg/Lを超えるレベル、特に65 mg/mlを超えるレベルが、対象が全面的に死亡する増加した可能性を有することを表すと考えられている。

30

【0050】

試料中において1つ以上の追加のマーカーを検査してもよい。これらにはアルブミンが含まれる。そのようなアッセイの使用は概して当技術分野において公知である。追加のマーカーの使用が追加のデータを提供し、且つ、予後診断の正確性を改善し、または基礎疾患/医学的問題の診断を支援すると予期されている。40 g/L未満、特に33 mg/L未満のアルブミンの濃度は追加の治療が無いときの100日以内の死亡リスクの上昇を表す。他のマーカーにはC反応性タンパク質 (CRP)、推算糸球体濾過量 (eGFR)、および赤血球沈降速度 (ESR) が含まれる。

40

【0051】

FLCに結合することができる (Fab)₂ またはFab抗体などの抗体断片を使用することもできる。

【0052】

抗体または断片を例えば上記の標識で標識することができる。標識抗免疫グロブリン結合抗体またはそれらの断片が、FLCに結合した抗遊離 または抗遊離 を検出するために提供され得る。

【0053】

(複数の) キットが、上に記載されたアルブミンなどのような他のマーカーを検査するための構成要素を含む、より大きな検査アッセイキットの一部を形成することができる。

50

そのようなマーカー用の抗体を提供することができる。

【0054】

前記のキットは表示された範囲でアッセイが校正されることを可能にする校正液を含むことができる。それらの校正液は好ましくは所定の濃度のFLC、例えば、6.25～200mg/Lの濃度のFLCを含む。抗体とラテックス粒子に被覆される「ブロッキング」タンパク質の量を最適化し、且つ、例えば、ポリエチレングリコール(PEG)の濃度などの補助試薬の濃度を最適化することによってそのキットを適合させることもできる。

【0055】

前記のキットは例えばFLCまたは実際には、アッセイすることができるアルブミンなどの他の化合物に対する複数の標準対照を含むことができる。それらの標準対照は、FLCまたは他の構成要素の濃度についての作製される検量線を検証するために使用され得る。そのような標準対照は、以前に校正された検量線が使用されている試薬および条件について有効であることを確認する。それらの標準対照は通常は対象由来の試料のアッセイと実質的に同時に使用される。

10

【0056】

前記のアッセイキットは比ろうキット(nephelometric kit)または比濁キット(turbidimetric kit)であり得る。そのキットはELISA、フローサイトメトリー、蛍光、化学発光またはビーズタイプアッセイまたはディップスティックであり得る。そのようなアッセイは当技術分野において一般的に知られている。

【実施例】

20

【0057】

血清中のFLC濃度は死亡率の上昇と関連する

材料と方法

本研究は地域研究倫理委員会と英国NHSTRラストの王立ウルヴァーハンプトン病院の研究開発部により認可された。

【0058】

試験集団

2005年11月8日と2006年1月10日の間に検査室は、SPEに必要な723人分の血清を受領した。小児患者からの試料、免疫グロブリン補充療法を受けている患者からの試料、同一の患者からの二番目以降の試料を分析から除外した。異常なFLC比率(0.26未満または1.65超; [Katzmann, JA, Clark, RJ, Abraham, RS et al. Serum reference intervals and diagnostic ranges for free kappa and free lambda immunoglobulin light chains: relative sensitivity for detection of monoclonal light chains. Clin Chem 2002;48;1437-1444.])によって示される、または、免疫固定電気泳動(IFE)によって確認される、SPEによるモノクローン性タンパク質の検出によって示されるモノクローン性ガンマグロブリン血症の証拠を有する患者も除外した。したがって、本試験は527人の選択された患者を含んだ。

30

【0059】

検査室分析

血清タンパク質異常について血清をSPE(Sebia社、英国)により分析した。異常なSPEバンドの存在を有する全ての試料、または異常を疑う高度な指標(未説明低ガンマグロブリン血症、幅広いベータ領域、または臨床観察によって支持される少ない免疫グロブリン)を有する全ての試料に対して血清IFE(Sebia社)を実行した。診断環境におけるFLC分析の評価の一環としてSiemens Dade-Behring Prospec比ろう計を製造業者の取扱説明に従って使用してFLC測定値(Freelite(商標)、Binding Site Group Ltd社、パーミンガム、英国)を得た。

40

【0060】

全免疫グロブリン(IgG、IgA、IgM)は比ろう法(Dade-Behring)により測定された。免疫グロブリン濃度に用いた正常範囲値はIgGでは6～16g/L

50

L、IgAでは0.8~4.0g/L、およびIgMでは0.5~2.0g/L [Milford Ward, A., Sheldon, J., Rowbottom, A., and Wild, G. D. PRU Handbook of Clinical Immunochimistry. 第9版、PRU Publications社; 2007年]であった。血清クレアチニンは患者の大多数(527人中497人)について測定された(Roche社; Modular)。推算糸球体濾過量(eGFR)はMDRD式[Levey, AS, Bosch, JP, Lewis, JB et al. A more accurate method to estimate glomerular filtration rate from serum creatinine: a new prediction equation. Modification of Diet in Renal Disease Study Group. Ann Intern Med 1999;130:461-470.]を用いて計算された。C反応性タンパク質(CRP)は527人中348人の患者において測定された(Roche社; Modular)。赤血球沈降速度(ESR)は527人中390人の患者において決定された(Starstedt社; S-Sedivette(登録商標))。

10

【0061】

患者フォローアップ

最初の試験の終了から4年6か月後である2010年7月に患者記録を再吟味した。全ての患者について最後のフォローアップの年月日、または死亡年月日を記録し、死亡証書を得た。

【0062】

臨床転帰と生存分析

カプラン・マイヤー生存曲線を構築してフォローアップ期間中に死亡率に影響した因子を特定した。

20

【0063】

ピアソンの相関分析を実施して異なるバイオマーカー間の相関の程度を決定した。異なるバイオマーカーをカテゴリー変数としてCox多変量回帰分析に含めるため、利用可能である場合は確定済みの基準範囲を使用した(表2aおよび2b)。eGFRについて30mL/分/1.73m²未満(CKDステージ4および5に相当; [20])のカットオフ値を使用した。cFLCについて刊行されている基準範囲は存在しないので、FLCとFLCの個々の基準範囲の合計(97.5百分位数[17])に近似する、50mg/Lのカットオフ値を選択した。さらに、受信者操作特性(ROC)分析を用いて予後診断的に最適化されたカットオフ値を選択した。年齢について75歳のカットオフ値を選択して、他のマーカーの基準範囲外の割合に相当する20%の高リスク群の患者を残した。Coxモデルを全ての死亡例と最初の100日以内の死亡例について構築した。100日以内に死亡する可能性を予測するために2つの最も有意で独立したリスク因子から構成されるリスク階層化モデルを構築した。

30

【0064】

【表 2 a】

表 2 a

	全ての死亡例	100日以内の死亡例
	p 値	p 値
異常 I g G	0.323	0.647
異常 I g A	0.118	0.251
異常 I g M	0.666	0.164
異常 I g G A M	0.269	0.181
33 g/L未満のアルブミン	0.001 未満*	0.001 未満*
10mg/L超のCRP	0.003*	0.001 未満*
12 超のESR	0.001 未満*	0.034*
30mL/分/1.73m ² 未満のeGFR	0.001 未満*	0.001 未満*
75歳超の年齢	0.001 未満*	0.03*
性別 (男性)	0.495	0.04*
65mg/L超のcFLC	0.001 未満*	0.001 未満*

10

表 2 a 単変量分析：* 単変量分析により死亡率の有意な ($p < 0.05$) 予測因子であることを示された因子。

【0065】

20

【表 2 b】

表 2 b

	全ての死亡例		100日以内の死亡例	
	p 値	ハザード比 (HR)	p 値	ハザード比 (HR)
30mL/分/1.73m ² 未満のeGFR	0.035	2.6	0.024	4.4
33g/L未満のアルブミン	0.004	3.7	0.002	6.5
65mg/L超のcFLC	0.04	2.3	0.015	7.1
75歳超の年齢	0.01 未満	3.8	該当無し	該当無し

30

表 2 b 多変量分析を用いて独立した予測因子であることが分かった全ての因子。

【0066】

この集団において観察された広範囲の死因に与えられるべき分析を簡易化するため、死亡証書に記載されている主要な死因をWHOの疾病および関連保健問題の国際統計分類第10版(ICD-10)に従ってカテゴリー化した。

【0067】

SPSS (第19版; シカゴ、米国) を使用してマン・ホイットニーのU検定、ピアソンのカイ二乗検定、カプラン・マイヤー曲線、およびCox回帰分析を実施した。GraphPad Prism (第5版) を使用して相関分析を実施した。罰則付き平滑化スプライン(P-スプライン)を用いる分析を実施して死亡リスクのcFLC濃度との関連を評価した(SAS第9.1.3版; SAS研究所、ケアリー、米国)。

40

【0068】

結果

患者の人口統計

患者の年齢の中央値は60歳(26~87歳の範囲)であり、男性/女性率は(216:307)であった(表1)。122人が入院患者であり、367人が紹介外来患者であり、38人がプライマリーケア患者であった。この集団において記録されている公知の悪性腫瘍には、CLL、癌およびリンパ腫を有する患者が含まれた(図1)。CLL、癌お

50

よび骨髄異形成症候群を含む公知の悪性腫瘍を有する32人の患者のうちの11人が死亡した。腎機能障害を有する患者(N=128、eGFR<60ml/分/1.73m²、CKDステージ3以上に相当)がCKDステージ1および2の患者(64.6mg/L対35.5mg/Lの中央値、p<0.001)に対してより高濃度のcFLCを有した。
【0069】

早期死亡およびリスク因子分析

4.5年のフォローアップ期間中に99件の死亡例(=18.8%の死亡率)があった。 Kaplan-Meier曲線によって、それらの死亡例のほぼ三分の一(29%)が最初の100日以内に生じていることが明らかになった(図2)。この理由のため、以後の分析は(100日未満の)早期死亡例と(フォローアップ期間を通した)全ての死亡例に分けて実施された。

10

【0070】

本研究ではcFLCは、ESR、CRP、アルブミン、eGFR、および年齢を含む確定済みのリスク因子以外の潜在的な新しい「死亡率予測因子」バイオマーカーとして評価された。

【0071】

【表3-1】

表3-1

	全患者 (N=527)
年齢(歳)	59.8 (26.06~87.18)
N	527
性別(男性の%)	216 (41.0%)
N	523
民族(%)	
白人種	64.5
アジア人種	13.7
アフリカ系カリブ人	4.7
その他	17.1
N	527
試験期間中の死亡率(%)	18.8%
N	99
eGFR (ml/分/1.73m ²)	78.7 (12.5~139)
N	494
ビリルビン (μmol/L)	8 (3~48.5)
N	443
ALP (U/L)	82 (46~257.5)
N	480
ALT (U/L)	25 (9.05~175.4)
N	441

20

30

【表 3 - 2】

表 3-2

総タンパク質 (g/L)	74 (57~87.9)	
N	443	
カルシウム ($\mu\text{mol/L}$)	2.29 (1.97~2.6)	
N	417	
ヘモグロビン (g/dL)	13.3 (7.95~16.6)	
N	509	
白血球数 ($\times 10^3/\text{mm}^3$)	7.2 (3.3~20.88)	10
N	509	
好中球数 ($\times 10^3/\text{mm}^3$)	4.3 (1.6~14.3)	
N	509	
FLC κ (mg/L)	18.2 (8.23~102.8)	
N	527	
FLC λ (mg/L)	20.4 (9~92.04)	
N	527	
FLC κ/λ 率	0.9 (0.48~1.7)	
N	527	
cFLC (mg/L)	39 (18.76~205)	20
N	527	
血清クレアチニン ($\mu\text{mol/L}$)	79 (50~415.7)	
N	497	
CRP (mg/L)	6 (1~195.65)	
N	348	
ESR (mm/時間)	17 (4~92.45)	
N	390	
アルブミン (g/L)	44 (28.88~51)	
N	474	
IgG (g/L)	11.8 (5.71~23.9)	30
N	527	
IgA (g/L)	2.57 (0.9~7.77)	
N	525	
IgM (g/L)	0.94 (0.23~3.06)	
N	523	
IgG/A/Mの合計 (g/L)	15.82 (8.78~31.61)	
N	522	

表 3 患者の特徴：連続変数は中央値（95百分位数範囲）を示す。eGFR = 推算糸球体濾過量（* $120\text{ml}/\text{分}/1.73\text{m}^2$ を超える eGFR 値）。ALP = アルカリホスファターゼ。ALT = アラニンアミノトランスフェラーゼトランスアミナーゼ。WCC = 白血球数。CRP = C 反応性タンパク質。ESR = 赤血球沈降速度。

【0072】

早期リスク因子：単変量分析

単変量分析によって 33g/L 未満のアルブミン、 10mg/L 超の CRP、 $12\text{mm}/\text{時間}$ 超の ESR、 $30\text{ml}/\text{分}/1.73\text{m}^2$ 未満の eGFR、75歳超の年齢、cFLC の増加、および性別（男性）が 100 日以内の死亡率の有意な ($p < 0.05$) 予測因子であるとして特定された（表 2 a）。

【0073】

相対的死亡リスクが cFLC 濃度の上昇と比例して上昇した（図 3）。低 cFLC 濃度（ 50mg/L 未満）を有する患者ほど高濃度（ 50mg/L 超）を有する患者と比べて

10

20

30

40

50

低下した死亡リスクを有した。ROC分析によって65 mg/Lがより高い死亡リスクを有する患者を特定するのに最適なカットオフ値として示された。

【0074】

早期リスク因子：多変量分析

多変量分析を用いて65 mg/L超のcFLC、33 g/L未満のアルブミン濃度、および30 mL/分/1.73 m²未満のeGFRだけが独立して100日以内の死亡率と関連した(表2b)。cFLCはこれらの因子と中程度に相関することが示され、その中で最も強力な相関がcFLCとアルブミンの間で観察された($r = -0.48$ 、 $p < 0.001$)(図4)。

【0075】

cFLCリスク階層化モデル

33 g/L未満のアルブミンおよび/または65 mg/L超のcFLCをリスク因子として組み合わせて簡易リスク階層化モデルを構築した。これによって患者が0リスク因子(ハザード比(HR)=1)を有する患者、1つのリスク因子(HR=4.2; CI=2.6~6.7、 $p < 0.001$)を有する患者、または2つのリスク因子(HR=24; CI=13.2~43.8、 $p < 0.001$)を有する患者に分けられた(コンビライトリスクスコアと呼ばれる; 図5)。100日以内に死んだ患者のうち、86%が1つか両方のリスク因子を有した。フォローアップ期間中の死亡例について、56%の患者が1つか2つのリスク因子を有した。独立して分析された同じリスク因子について、100日以内の関連死亡例とフォローアップ期間中の関連死亡例の割合は33 g/L未満のアルブミンについては50%と24%であり、65 mg/L超のcFLCについては73%と50%であった。

【0076】

後期リスク因子

フォローアップ期間内の全ての死亡例について、単変量分析によって男性の性別を例外として100日以内の死亡のリスク因子と同じリスク因子が特定された(表2a)。多変量分析によって特定された独立したリスク因子はeGFR、アルブミン、cFLCおよび年齢であった(表2b)。100日以内の死亡について独立したリスク因子として特定されなかった年齢を別として、それらの変数は早期死亡例の予測についてのリスク因子よりも低いHRと有意性レベルを有した。

【0077】

死因

主要な死因の最も頻度が高い分類は「循環器系」、「呼吸器系」であり、「腫瘍」と「消化器系」は次に一般的であった。循環器系、呼吸器系および消化器系の死亡例について、発生率(%)は65 mg/L超のcFLCを有する患者において有意に高かった(図6)。100日未満の内に、または100日を超えて死んだ患者について同じ主要な死因が見られた(データは示さず)。

【0078】

循環器系の死亡例は大部分に卒中(strokes)と心臓発作/心不全を含んだが、感染症/呼吸器系の死亡例は主に肺炎が原因とされた。消化器系の死亡例は多臓器不全、胃腸出血、および幾つかの形態の肝臓病を含んだ。腫瘍が原因の死亡例は高cFLCと有意に関連しなかった。

【0079】

考察

本明細書において我々は、院内紹介集団内でcFLC濃度の上昇が死亡リスクの上昇と関連することを示した。このことは一般的な集団におけるcFLC予後診断の予備調査報告[Eisele, L, Durig, J, Huttman, A et al. Polyclonal free light chain elevation and mortality in the German Heinz Nixdorf Recall Study. Blood 2010;116:3903a-、Dispenzieri, A, Katzmann, JA, Kyle, RA et al. Use of nonclonal serum immunoglobulin free light chains to predict overall survival in the general population. Ma

10

20

30

40

50

yo Clin Proc 2012;87;517-523] を拡大解釈する。さらに、この予後診断値は他の以前に定義されたバイオマーカー、特にアルブミンの減少 [Corti, MC, Guralnik, JM, Salive, ME et al. Serum albumin level and physical disability as predictors of mortality in older persons. JAMA 1994;272;1036-1042.]、E S R の上昇 [Danesh, J, Collins, R, Peto, R et al. Haematocrit, viscosity, erythrocyte sedimentation rate: meta-analyses of prospective studies of coronary heart disease. Eur Heart J 2000;21;515-520.]、e G F R の減少 [Go, AS, Chertow, GM, Fan, D et al. Chronic kidney disease and the risks of death, cardiovascular events, and hospitalization. N Engl J Med 2004;351;1296-1305.] および C R P の増加 [Koenig, W, Khuseyinova, N, Baumert, J et al. Prospective study of high-sensitivity C-reactive protein as a determinant of mortality: results from the MONICA/KORA Augsburg Cohort Study, 1984-1998. Clin Chem 2008;54;335-342.] と無関係であった。

10

【 0 0 8 0 】

本試験は、プライマリーケア群、外来群および入院群からの患者を含む、様々な背景に由来する患者を含んだ。そのようなコホートを選択した目的は選択バイアスを回避するため、およびより大規模な将来の研究のためのパイロット試験指針としてであった。この集団において最初の100日以内の死亡頻度の上昇が存在し、且つ、c F L C がこの期間内の転帰と関連する最大の H R (H R = 7 . 1) を有し、死亡した患者の73%が65mg / L 超の c F L C を有した。心血管疾患 (C V D) がこれらの死亡例の大きな割合を占めたが (29人中12人、41%)、C R P は独立した死亡リスク因子ではなかった。血清アルブミンの減少および / または c F L C の増加を組み入れた簡易3層リスク階層化モデルによって100日以内の総死亡率の86%が明らかにされ、この階層化モデルが、即座のより詳細な追加調査から利益を受ける可能性がある、高早期死亡リスクを有する患者を特定する高感度で非常に有効な方法を構成し得ることが示唆された。このリスク階層化は全員が S P E 要求事項を有する患者集団を用いて示されたが、より適切な適用は緊急診察室 (m e d i c a l a s s e s s m e n t u n i t) に紹介された患者を用いて示され得るだろう。

20

【 0 0 8 1 】

c F L C の予後診断値はフォローアップ期間の最中に減少した (100日目における H R = 7 . 1、p = 0 . 015 から 4 . 5年後の H R = 2 . 3、p = 0 . 04まで)。実際には、そのような長期間にわたって全ての転帰を予測することについて、多くの実際の用途を思いつくことができない。しかしながら、これらの患者の25%において死亡は C V D 関連の原因によるものであった。したがって、血圧およびリポタンパク質濃度などの他の確定済みの評価項目と共に心血管系リスク因子として c F L C を評価することが適切であると主張することができるだろう。

30

【 0 0 8 2 】

我々は、F L C 産生および / または異なる経路の F L C クリアランスに対する病理的影響の組合せこそ c F L C の増加を総死亡率の上昇と関連させることになるかと推量している。血清遊離軽鎖の増加に関する単純化した機構的モデルが図7に示されている。このモデルは F L C 濃度に影響し得る因子について部分的に説明し得るが、そのシステムの複雑性を反映しておらず、いっそうの研究が必要である (図7)。このデータでは c F L C は年齢と腎機能の両方と無関係であることが注目すべきことであるが、ポリクローン性 F L C 産生の上昇が自己免疫疾患、感染症、加齢および慢性腎臓病における疾患活動性 / 転帰と関連することが既に示されている [Gottenberg, JE, Aucouturier, F, Goetz, J et al. Serum immunoglobulin free light chain assessment in rheumatoid arthritis and primary Sjogren's syndrome. Ann Rheum Dis 2007;66;23-27, Hoffman, U, Opperman, M, Kuchler, S et al. Free immunoglobulin light chains in patients with rheumatic diseases. Z Rheumatol 2003;62;Fr40a-, Aggarwal, R, Sequeira, W, Kokebie, R et al. Serum free light chains as biomarkers for systemic lupus erythematosus disease activity. Arthritis Care Res 2011;63;891-898, Hutchison, CA, Harding, S, Hewins, P

40

50

et al. Quantitative assessment of serum and urinary polyclonal free light chains in patients with chronic kidney disease. Clin J Am Soc Nephrol 2008;3;1684-1690.]。ポリクローン性産生の上昇は、全体的なB細胞刺激を示唆しており、幾つかの血液腫瘍とも関連し、且つ、ホジキン病 [De Filippi, R, Russo, F, Iaccarino, G et al. Abnormally elevated levels of serum free-immunoglobulin light chains are frequently found in classic Hodgkin Lymphoma (cHL) and predict outcome of patients with early stage disease. Blood 2009;114;267a-]、非ホジキンリンパ腫 [Landgren, O, Go edert, JJ, Rabkin, CS et al. Circulating serum free light chains as predictive markers of AIDS-related lymphoma. J Clin Oncol 2010;28;773-779.、Maurer, MJ, Mica llef, IN, Cerhan, JR et al. Elevated serum free light chains are associated with event-free and overall survival in two independent cohorts of patients with diffuse large B-cell lymphoma. J Clin Oncol 2011;29;1620-1626.] および慢性リンパ球性白血病 [Morabito, F, De Filippi, R, Laurenti, L et al. The total amount of kappa plus lambda serum immunoglobulin free light chains (sFLC +) is a powerful independent predictor of time to first treatment in chronic lymphocytic leukemia (CLL) and allows definition of a novel prognostic scoring system: a study of 449 therapy-naive patients. Blood 2010;116;2437a-、Pratt, G, Harding, S, Fegan, C et al. Serum FLC levels at presentation have independent prognostic significance in CLL and levels above 50mg/L identify patients with progressive disease. Blood 2009;114;2355a-、Maurer, MJ, Cerhan, JR, Katzmann, JA et al. Monoclonal and polyclonal serum free light chains and clinical outcome in chronic lymphocytic leukemia. Blood 2011;118;2821-2826.] の予後兆候となることが報告されている。

10

20

30

40

50

【 0 0 8 3 】

しかしながら、ポリクローン性 F L C の増加の最も一般的な原因はおそらく腎不全に起因するクリアランスの低下であり [Hutchison, CA, Harding, S, Hewins, P et al. Quantitative assessment of serum and urinary polyclonal free light chains in patients with chronic kidney disease. Clin J Am Soc Nephrol 2008;3;1684-1690.]、且つ、C K D は罹患率と死亡率の上昇、特に C V D が原因の罹患率と死亡率の上昇と関連することがよく知られている [Go, AS, Chertow, GM, Fan, D et al. Chronic kidney disease and the risks of death, cardiovascular events, and hospitalization. N Engl J Med 23-9-2004;351;1296-1305.]。F L C は細網内皮系の細胞による飲作用を介してクリアされもする。肝臓はこの除去の主要な部位であり、この経路を介したクリアランスの低下が幾人かの肝臓病患者において見られる F L C 濃度の上昇の原因であり得る [Assi, LK, Hughes, RG, Gunson, B et al. Abnormally elevated serum free light chains in patients with liver disease. Journal of Hepatology 2010;51;S440-S441-]。F L C の腎臓クリアランスは健常対象における最も有力な機構であるが、細網内皮クリアランスの低下は既に e G F R の減少が存在する場合に c F L C 濃度に対して有意な影響を有する可能性がある。

【 0 0 8 4 】

モノクローン性 F L C 測定値は研究されたモノクローン性ガンマグロブリン血症の大部分の有害転帰と関連する。ポリクローン性 F L C レベルは他の血液腫瘍の有害転帰と関連し、且つ、悪性転換のマーカーとして関連している。我々の研究は (1 0 0 日未満の) 悪性転帰の早期検出期間と 4 . 5 年のフォローアップ期間の両方での総死亡率におけるこれらの不可解な分子の潜在的な効用を強調するものである。

【 0 0 8 5 】

M E W S 評価

研究デザイン

本研究はウルヴァーハンプトンのニュー・クロス病院の紹介診療室 (M A U) に来た患者からなる群における c F L C の役割を調査するようにデザインされた前向き研究である。M A U に来た患者が M E W S / E W S 検査 (体温及び心拍数の検査、尿検査および意識

検査を含む)に適任である。患者の最初の評価の一環として、それらの患者のcFLCレベルを決定するためにコンプライトも使用される。MAUにおける患者の日常的評価の一環として、患者はX線撮影とスキャンを含む他の検査と共に血液試料を提供する。試料が血液学検査室に一旦送られると、その試料はBinding Site Group Limited社のcFLCコンプライト検査を用いてcFLC濃度を決定するために使用される。患者が提示している臨床的合併症に応じて必要なあらゆる他の検査と共に、MEWS/EWSを構成する変数も検査される。これらの評価が一旦完了すると、患者を治療する臨床医または専門医が、家に帰すほど患者が十分に健康であるか決定する。あるいは、患者は追加の治療のために入院することもある。これには緊急病棟(高度看護室または集中治療室など)への入院、一般病棟への入院を含むことがあり、または患者が手術を必要とすることがある。あらゆる異常な結果が、通常行われるように、要請した臨床医によって追跡調査される。検査が一旦完了すると、患者のフォローアップ評価が3か月後、6か月後、および1年後に行われる。本試験において評価される主要転帰は、次の時点、すなわち、3か月、6か月、および1年の時点で患者が死んだか、または生きているかということである。次に、cFLCと一緒にMEWS/EWSの評価が、患者がどれ位治療されるべきか決定する上でMEWS/EWSスコアだけの評価と比べて有益であるかどうか判定するために、これらの転帰が患者のMEWS/EWSスコア(診察時に決定される、退院時に決定される、最悪のスコア)とcFLCの結果と比較される。

10

【0086】

ウルヴァーハンプトンのニュー・クロス病院の紹介診療室(MAU)に来た全ての患者は本試験に含めるのにふさわしい。最大で3000人の患者が本試験に動員される。次のことを考慮してこの人数が算出された。

20

(1)第1に、毎日平均で30人の患者がMAUで評価され、パイロット試験が3か月間行われ、平均約3000人の患者になる。これはその期間内に見られる患者の予測数に基づく。

(2)第2に、検出力計算を用い、以前の研究(6)から得られた結果に基づいて必要とされる患者数を決定した。簡単に説明すると、本試験は血液学検査部に差し向けられた院内紹介集団を含んだ。血清タンパク質電気泳動(SPE)検査は2005年11月8日と2006年1月10日の間に要請された(N=723血清試料)。小児患者からの試料、免疫グロブリン補充療法を受けている患者からの試料、同一の患者からの二番目以降の試料を分析から除外した。異常なFLC比率(0.26未満または1.65超)(9)によって示される、またはSPEの異常な結果(免疫固定によって確認された場合)によって示されるモノクローン性ガンマグロブリン血症の証拠を有する全ての患者も除外した。これによって、最終的なデータ分析に528人の患者が残った。しかしながら、これはSPEが要請された場合の患者だけに基づいている。MAUに来る全ての患者を考慮すると、SPEはMAUに来る患者の約20%に要請されるので、本試験に必要な患者の総数は約3000人になる。

30

【0087】

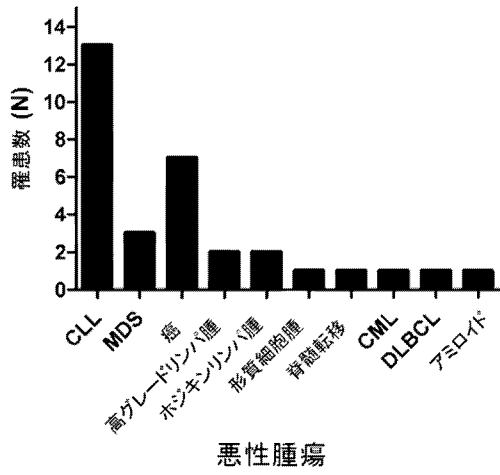
慢性腎臓病を有する患者および全身性紅斑性狼瘡を有する患者を含む、上昇したFLCの発現が知られているある特定の患者群が存在する。しかしながら、生存(すなわち、患者が生きているか、または死んでいるかという状態)が各時点において分析される主要転帰であるので、現在知られているあらゆる診断法に基づいてこれらの患者が除外されることはない。それらの患者のcFLCの結果がMEWSまたはEWSスコアと比較されて、コンプライトを含んだことが単にMEWSスコアまたはEWSスコアだけを用いたことと比べて患者の転帰に影響をいくらかでも有したか判定される。

40

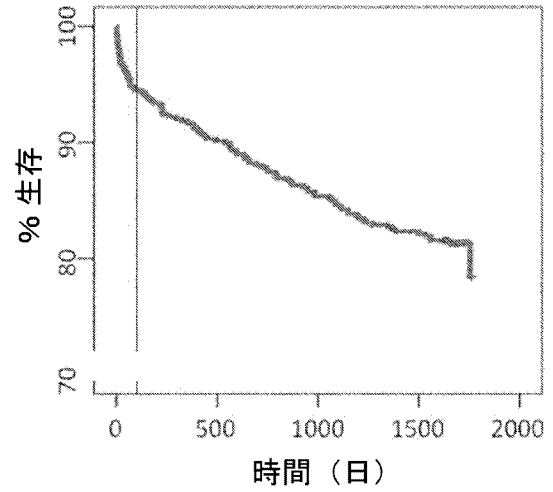
【0088】

上記のcFLC生存について見出された証拠を考慮すると、MEWSとcFLCの組合せが患者における症状の重症度の判定を改善することが予期される。

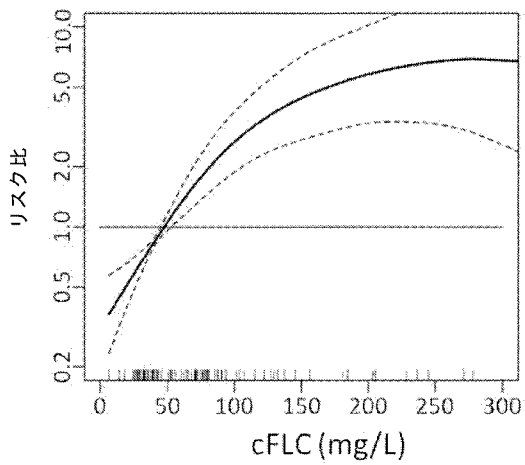
【 図 1 】



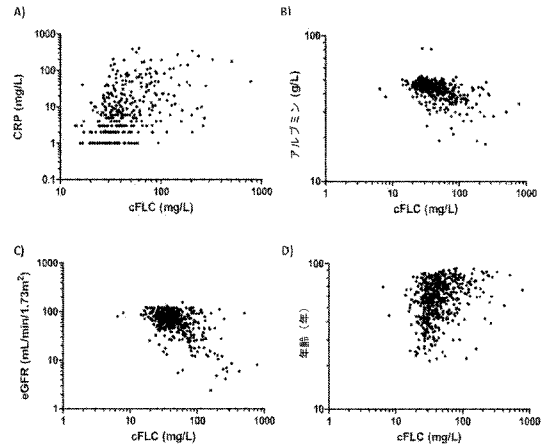
【 図 2 】



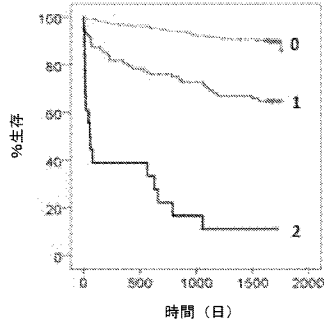
【 図 3 】



【 図 4 】

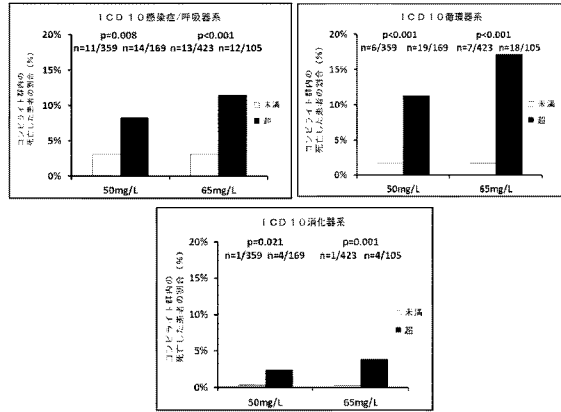


【 図 5 】



スコア	リスク因子	n	ハザード比 (HR)	P値
0	アルブミン>33g/LかつcFLC<65mg/L	368	1	n/a
1	アルブミン<33g/L又はcFLC>65mg/L	88	4.2	<0.001
2	アルブミン<33g/LかつcFLC>65mg/L	18	24	<0.001

【 図 6 】



【 図 7 】

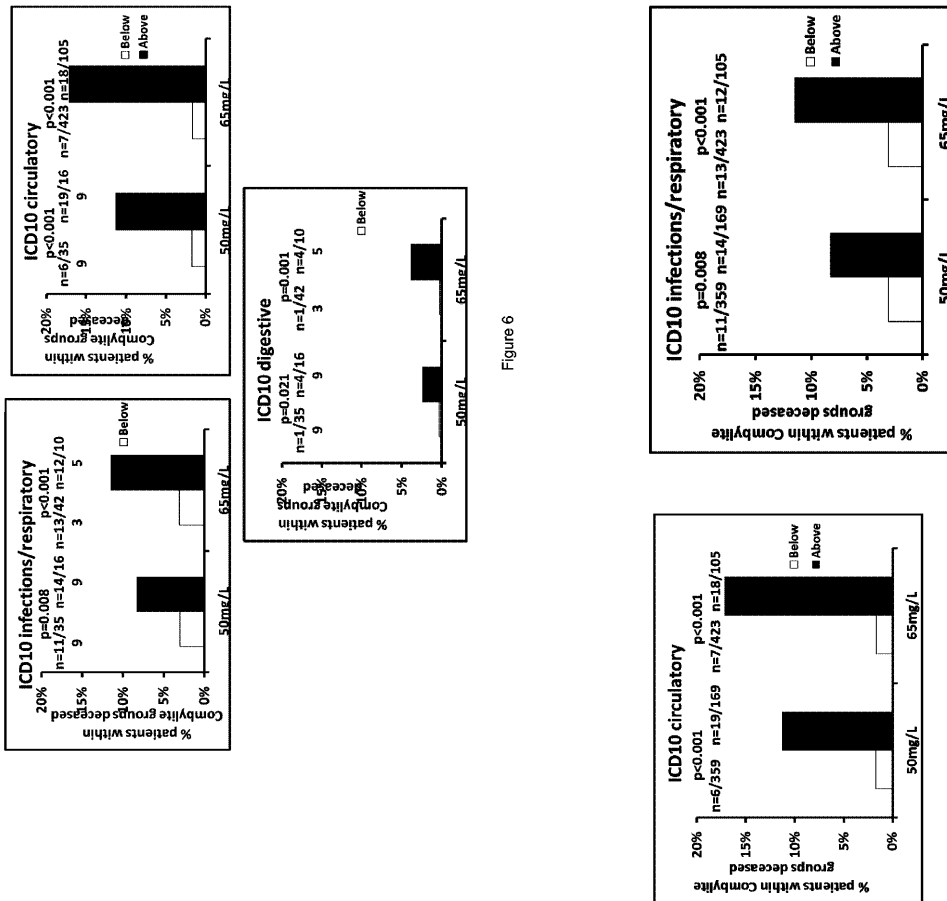
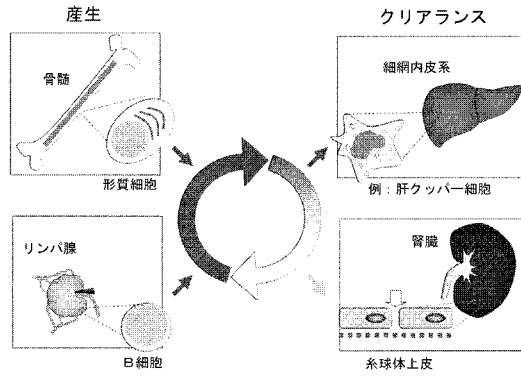
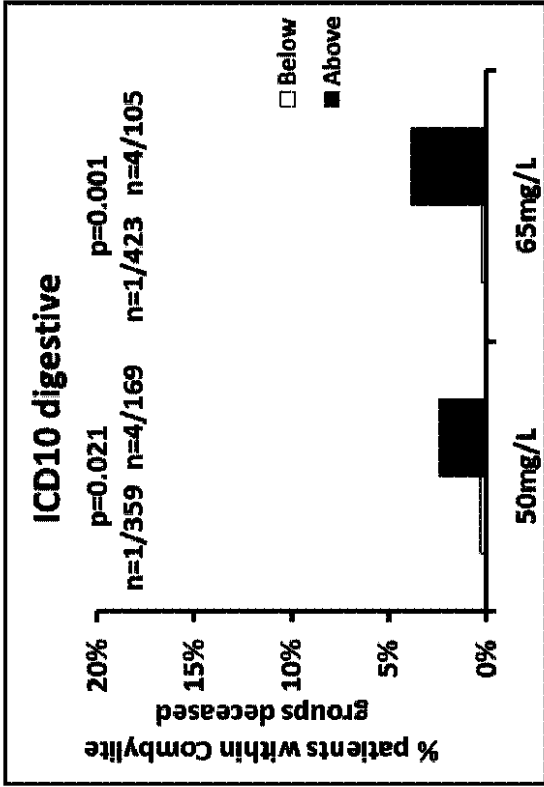


Figure 6



【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/GB2013/051828

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER INV. G01N33/68 ADD.		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) G01N		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) EPO-Internal, BIOSIS, EMBASE, WPI Data		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2011/114150 A1 (BINDING SITE GROUP LTD [GB]; BRADWELL ARTHUR [GB]; HUGHES RICHARD [GB]) 22 September 2011 (2011-09-22) claims 1-11; fig. 1-5; p. 13-14; p. 7, last par. - p. 9, 3rd par. the whole document	1-11
X	GB 2 472 518 A (BINDING SITE GROUP LTD [GB]) 9 February 2011 (2011-02-09) the whole document	1-11
X	WO 2011/107965 A1 (BINDING SITE GROUP LTD [GB]; BRADWELL ARTHUR) 9 September 2011 (2011-09-09) the whole document	1-11
	----- -/--	
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C.		<input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.
* Special categories of cited documents : "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed		"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family
Date of the actual completion of the international search		Date of mailing of the international search report
19 September 2013		12/11/2013
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer
		Schindler-Bauer, P

1

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/GB2013/051828

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	<p>VAN RHEE FRITS ET AL: "High serum-free light chain levels and their rapid reduction in response to therapy define an aggressive multiple myeloma subtype with poor prognosis", BLOOD, AMERICAN SOCIETY OF HEMATOLOGY, US, vol. 110, no. 3, 1 August 2007 (2007-08-01), pages 827-832, XP008127770, ISSN: 0006-4971, DOI: 10.1182/BLOOD-2007-01-067728 [retrieved on 2007-04-06] abstract the whole document page 828, column 2 - page 829, column 1 -----</p>	1-11
X	<p>EISELE LEWIN ET AL: "Polyclonal Free Light Chain Elevation and Mortality In the German Heinz Nixdorf Recall Study", BLOOD, AMERICAN SOCIETY OF HEMATOLOGY, US, vol. 116, no. 21, 1 November 2010 (2010-11-01), XP009172641, ISSN: 0006-4971 abstract -----</p>	1-11
Y	<p>SUBBE C P ET AL: "Validation of a modified Early Warning Score in medical admissions.", QJM : MONTHLY JOURNAL OF THE ASSOCIATION OF PHYSICIANS OCT 2001, vol. 94, no. 10, October 2001 (2001-10), pages 521-526, XP002713224, ISSN: 1460-2725 the whole document -----</p>	1-10
X	<p>COLIN A HUTCHISON ET AL: "Quantitative assessment of serum and urinary polyclonal free light chains in patients with chronic kidney disease", CLINICAL JOURNAL OF THE AMERICAN SOCIETY OF NEPHROLOGY : CJASN, AMERICAN SOCIETY OF NEPHROLOGY, US, vol. 3, no. 6, 1 November 2008 (2008-11-01), pages 1684-1690, XP002652096, ISSN: 1555-905X, DOI: 10.2215/CJN.02290508 [retrieved on 2008-10-22] the whole document ----- -/--</p>	1-11

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No PCT/GB2013/051828

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	<p>BASU ET AL.: "Elevated combined serum free light chain (CFLC) levels are significantly associated with increased mortality", HAEMATOLOGICA, vol. 96, no. s2, 0805, 9 June 2011 (2011-06-09), pages 335-336, XP002713225, cited in the application abstract</p> <p style="text-align: center;">-----</p>	1-11
Y	<p>A LEGG ET AL: "Serum free light chain and Hevylite analyses in the diagnosis, monitoring and prognosis of B cell disorders", KLINICKA BIOCHEMIE A METABOLISMUS, vol. 18, no. 2, 1 January 2010 (2010-01-01), pages 56-61, XP55066507, the whole document page 59</p> <p style="text-align: center;">-----</p>	1-10
T	<p>ANANDRAM SEETHARAM ET AL: "Elevated, combined serum free light chain levels and increased mortality: a 5-year follow-up, UK study", JOURNAL OF CLINICAL PATHOLOGY, BMJ PUBLISHING GROUP, GB, vol. 65, no. 11, 1 November 2012 (2012-11-01), pages 1036-1042, XP009172639, ISSN: 0021-9746, DOI: 10.1136/JCLINPATH-2012-200910 the whole document</p> <p style="text-align: center;">-----</p>	

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/GB2013/051828

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2011114150 A1	22-09-2011	CN 102906569 A	30-01-2013
		EP 2548028 A1	23-01-2013
		JP 2013522617 A	13-06-2013
		US 2013071855 A1	21-03-2013
		WO 2011114150 A1	22-09-2011

GB 2472518 A	09-02-2011	CN 102639999 A	15-08-2012
		EP 2467724 A2	27-06-2012
		GB 2472518 A	09-02-2011
		JP 2012198248 A	18-10-2012
		JP 2013502569 A	24-01-2013
		US 2012220052 A1	30-08-2012
WO 2011107965 A1	09-09-2011	WO 2011021041 A2	24-02-2011
		CN 102959399 A	06-03-2013
		EP 2542896 A1	09-01-2013
		GB 2478520 A	14-09-2011
		JP 2013521490 A	10-06-2013
		US 2013078655 A1	28-03-2013
		WO 2011107965 A1	09-09-2011

フロントページの続き

(81)指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), EP(AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC

(72)発明者 ヒューズ, リチャード

イギリス ウェスト ミッドランズ B 1 5 1 Q T バーミンガム エッジバーストン キャルソ
ープ ロード 8

(72)発明者 ハーディング, スティーブン

イギリス ウェスト ミッドランズ B 1 5 1 Q T バーミンガム エッジバーストン キャルソ
ープ ロード 8

专利名称(译)	分诊评分系统		
公开(公告)号	JP2015522822A	公开(公告)日	2015-08-06
申请号	JP2015522160	申请日	2013-07-10
[标]申请(专利权)人(译)	结合点集团有限公司		
申请(专利权)人(译)	结合部位集团有限公司		
[标]发明人	ヒューズリチャード ハーデティーブン		
发明人	ヒューズ,リチャード ハーディング,スティーブン		
IPC分类号	G01N33/563 G01N33/53		
CPC分类号	A61B5/7275 A61B5/02055 A61B5/021 A61B5/024 A61B5/0816 A61B5/14542 A61B5/165 A61B5/208 A61B5/4824 A61B2505/01 A61B2505/03 G01N33/6857 G01N33/6893 G01N2333/47 G01N2333/76 G01N2800/56		
FI分类号	G01N33/563 G01N33/53.D		
代理人(译)	川口义行		
优先权	2012012900 2012-07-20 GB		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

本申请是一种确定患者病症严重程度的方法，包括：(i) 针对患者的早期预警评分 (EWS)，修改的早期警告评分 (MEWS)，儿童早期警告评分 (PEWS)，NHS提供分类评分，例如预警评分 (NEWS)，简化临床评分 (SCS)，快速紧急评分 (REMS) 或急诊科败血症评分的死亡率，(ii) 来自所述患者的样本中的自由光测量链的量 (FLC)，优选游离轻链混合物 (cFLC)，和 (iii) 评估所述分类评分和所述测量的 FLC 量以评估所述患者的病症的严重程度公开了包括使用的方法。该方法还可以为接受分诊的患者提供更合适的治疗。

(21) 出願番号	特願2015-522160 (P2015-522160)	(71) 出願人	510184449
(86) (22) 出願日	平成25年7月10日 (2013.7.10)		
(85) 翻訳文提出日	平成27年3月19日 (2015.3.19)		
(86) 国際出願番号	PCT/GB2013/051828		
(87) 国際公開番号	W02014/013225		
(87) 国際公開日	平成26年1月23日 (2014.1.23)		
(31) 優先権主張番号	1212900.3	(74) 代理人	100100549
(32) 優先日	平成24年7月20日 (2012.7.20)		弁理士 川口 嘉之
(33) 優先権主張国	英国 (GB)	(74) 代理人	100126505
			弁理士 佐賀 伸一
		(74) 代理人	100131392
			弁理士 丹羽 武司
		(74) 代理人	100151596
			弁理士 下田 俊明